





(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

一人の実験者でもって実験動物（例えばラット）からの搾乳作業が可能となり、かつ、実験者の個人差に左右されない普遍的に搾乳データを入手することのできる実験動物用搾乳装置を得る。また、ラットやマウスのような比較的小形でありかつ多産系の実験動物の乳頭から直接搾乳することが可能なティートカップを得る。本発明は、乳を通して外因性有害物質の生体に及ぼす影響などを明らかにする上で、特に有用な手段となる。

本発明の装置は、内部を外気と遮断した状態に保持できる集乳容器 10 と、集乳容器の内部に連通する状態で挿入された第 1 及び第 2 の 2 本のチューブ 12, 13 とを備え、第 1 のチューブ 12 の他端に交換可能にティートカップ 20 を装着する。第 2 のチューブ 13 の他端にはその内部を陰圧発生源 35 に接続した状態と大気に解放した状態とに切り替えることのできる例えば電磁弁 33A, 33B のような圧力切り替え手段を備える。

## 明細書

## 実験動物用搾乳装置

## 技術分野

本発明は実験動物用搾乳装置、特に、ラットやマウスのような比較的小形でありかつ多産系の実験動物に適した搾乳装置に関する。

## 背景技術

近年、環境汚染、特に発ガン性物質、内分泌攪乱（化学）物質などの生体に対する有害物質が世界的に大問題となっている。母乳又は牛乳を通して生体に及ぼすこれらの有害物質の影響が懸念されている。もし、ラットやマウスのような実験動物の乳をより簡単な方法で採取することが可能であれば、これらの外因性有害物質の生体に及ぼす影響を明らかにする上で有用な手段となる。

しかしながら、ラットやマウスのような比較的小形でありかつ多産系の実験動物は乳頭が小さくまた乳量も少ないことから、有効な搾乳装置は未だ提案されていない。例えば、ラットの乳は、直接乳頭から採取することが困難なために、研究室などでは、授乳させた産仔ラットの胃から採取しているのが普通である。しかし、胃から採取した乳は、唾液及び胃液との混合や攪拌によって乳成分の分解及び消化が起こっていることが考えられ、本来の乳といえるかどうか疑問がある。

ラットから直接的に搾乳する装置として、C. T. Rodgers は、図 11 に示すような装置を提案している(Laboratory Animals (1995) 29, 450-455)。この装置では、ガラス容器 60 内に集乳用試験管 61 が配置され、該ガラス容器 60 は蓋 62 により閉塞されている。集乳用試験管 61 には可とう性チューブ 63 の一端がその内部に連通する状態で挿入され、該可とう性チューブ 63 は蓋 62 を通ってガラス容器 60 の外側に延び、その先端をシリコン性のティートカップ 64 に装着している。ガラス容器 60 の下方には 2 個の開口 65、66 が設けてあり、一方の開口 66 には陰圧発生源（不図示）に接続するチューブが装着されている。

この装置を用いてラットから搾乳を行うに当たっては、陰圧発生源を常時作動させておいて一方の開口 66 から真空引きを行う一方、実験者が他方の開口 65

を指で閉塞したり開放したりして、拍動を生じさせる。拍動は可とう性チューブ 63 を通してティートカップ 64 に伝わり、ラットの乳頭にあてがったティートカップ 64 での搾乳が進行する。上記論文では、上記装置を使用することによって、泌乳 14 日目の母ラットの全乳頭から 1.0 ml ~ 1.5 ml の乳量を搾乳したと報告されている。

上記の搾乳装置はラットの乳頭から直接搾乳することが可能であることを示しており有益なものである。しかし、この搾乳装置を用いて搾乳するためには、実験者がどうしても二人必要となる。すなわち、一人が一方の手で母ラットを固定し、他方の手でティートカップ 64 を操作する。そして、もう一人が減圧用の開口 55 の先端を人差し指で塞いだり、開放したりして拍動を発生させなければならない。さらに、実験者の指の動作で拍動を発生させるために、実験者の個人差による誤差が生じがちであり、普遍的な搾乳量などのデータを得ることは容易でない。さらに、ティートカップの形状についての具体的な報告はなく、より適切な搾乳を行うためには、今後の課題として残されている。

従って、本発明の目的は、一人の実験者でもって搾乳作業が可能であり、かつ、実験者の個人差に左右されることなく普遍的に搾乳データを入手することのできる新規な実験動物用搾乳装置を提供することにある。また、本発明の他の目的は実験動物用搾乳装置に特に適した新規なティートカップを提供することにある。

## 発明の開示

本発明による実験動物用搾乳装置は、内部を外気と遮断した状態に保持できる集乳容器と、該集乳容器の上方部分において集乳容器の内部に連通する状態で一端が挿入された第 1 及び第 2 の 2 本のチューブと、前記第 1 のチューブの他端に交換可能に装着されたティートカップと、前記第 2 のチューブの他端に装着された陰圧発生源とを備え、さらに、前記第 2 のチューブの内部を大気圧と前記陰圧発生源に起因した陰圧の状態とに拍動的に切り替えることのできる圧力切り替え手段とを少なくとも備えることを特徴とする。

この実験動物用搾乳装置では、陰圧発生源を連続的に作動する状態としておき、その状態で前記圧力切り替え手段により第 2 のチューブの内部と陰圧発生源とを

接続して第2のチューブの内部を陰圧の状態とすると、その陰圧は、集乳容器から第1のチューブを介して、直接ティートカップに伝達される。また、圧力切り替え手段が第2のチューブを大気に解放して大気圧することにより、ティートカップは大気圧下となる。従って、圧力切り替え手段に拍動的すなわち周期的作動を与えることにより、ティートカップの先端には連続した拍動が発生する。

その状態で、実験者は、一方の手で母ラットを固定し、他方の手でティートカップを実験動物の乳頭にあてがうことにより、所要の搾乳を行うことが可能となる。そのことは、一人の実験者でもって連続した搾乳作業を遂行できることを意味しており、本発明での大きな利点となる。また、陰圧と大気圧の繰り返しは、ティートカップを介して実験動物の乳頭に直接作用するので、ラットのような小形実験動物の場合でも、搾乳は円滑に進行する。

ティートカップの拍動により搾乳された実験動物の乳は、第1のチューブを通じて集乳容器の下方に集められる。構造上、集乳容器に集められた乳が第2のチューブ内に流入することではなく、圧力切り替え手段や陰圧発生源が作動障害を起こすことはない。

本発明の実験動物用搾乳装置において、陰圧発生源は任意のものをを用いることができるが、真空ポンプと第2のチューブの内部圧力を調圧する圧力調整器を併用して用いる態様は、一つのユニットとして実験動物用搾乳装置を作り上げるのに好適なものとなる。また、アキュムレータのような負圧タンクを用いることにより、安定した拍動を発生させることが可能となる。他に、実質的に安定した流量で流れる流体（例えば、水道水、空気、水蒸気のような流体）の運動量を作動源とする陰圧発生手段、例えば、アスピレーターを用いることもできる。この場合には、圧力調整器などを用いなくても、例えば水道栓を開閉するなどにより、流体の流量を調節することによって任意の陰圧に容易に調整することができ、装置が簡素化される利点がある。

前記圧力切り替え手段は、第2のチューブを常時陰圧源に接続状態としておき、その状態で第2のチューブの内部を大気に開放した状態と遮断した状態とに切り替えることのできる好ましくは2方向電磁弁のような開閉弁で構成されていてもよい。また、他の態様として、第2のチューブを陰圧源に断続する第1の開閉弁

と、第1の開閉弁よりも上流側において第2のチューブの内部を大気に開放した状態と遮断した状態とに切り替える第2の開閉弁とから構成するようにしてもよい。後者の場合にも、2方向電磁弁のような開閉弁が好適に用いられる。さらに他の態様として、牛の搾乳装置において従来用いられているパルセーター弁形式の開閉弁も有効である。

電磁弁を用いる場合には、各電磁弁の開閉タイミングを制御するためのコンピュータ制御による制御手段を備えることにより、安定した搾乳作業を行うことが可能となり、また、同一の装置を用いて、多種の実験動物に対して最適な条件で搾乳することも可能となる。加えて、本発明において、ティートカップは第1のチューブの一端に交換可能に装着される態様であり、搾乳しようとする実験動物に最適な形状のティートカップを選択的に使用することも容易となる。

好ましくは、前記ティートカップは、実験動物の乳頭への挿入孔を備えた頂面部分（ライナー）と、該頂面部分の周囲から延出する前記第1のチューブへの外嵌部分とを有しており、前記頂面部分の少なくとも前記挿入孔周辺は、搾乳時に、第1のチューブ内が陰圧となったときに内側へ向けて変形し、大気圧になったときに元の姿勢に復帰するような柔軟さと弾性力を持つように構成されていることを特徴とする。

この形状のティートカップは陰圧時（搾乳期）には頂面部分（すなわち、搾乳の際、乳頭及び乳房が直接接する部分）の内側への変形により挿入孔が変形し、乳頭から乳が吸い出される。大気圧時（休止期）は元の姿勢に復帰する。このような頂面部分の変形は、実験動物の母側の乳頭及び産仔の乳頭刺激と同様な効果を導き出すことができ、効果的な搾乳が進行する。

上記の効果は、ティートカップの前記挿入孔の内周面を、当該ティートカップを嵌着した第1のチューブの側が小径となるような傾斜面とすること、ティートカップの前記挿入孔周辺に放射方向の切り込みを形成すること、さらには、第1のチューブのティートカップ装着側先端部を、ティートカップ側が大径となるような傾斜面とすること、を選択的にまたは付加的に採用することにより、さらに増進することが実験的に確かめられている。

本発明者の実験によれば、ラットを対象実験動物とした場合に、圧力切り替え

手段の安定作動圧の高低にも左右されるが、搾乳時（吸引期）にティートカップ先端に $-210\text{ mmHg}$ 、好ましくは $-150\text{ mmHg}$ 程度の陰圧を所定時間発生させた場合に、最大の搾乳量を得ることができた。したがって、本発明による実験動物用搾乳装置において、搾乳時にティートカップ先端に $0\text{ mmHg}$ ～ $-210\text{ mmHg}$ 、好ましくは $0\text{ mmHg}$ ～ $-150\text{ mmHg}$ の間の陰圧が発生するように構成することは好ましい態様となる。

#### 図面の簡単な説明

図1～図4は、本発明による実験動物用搾乳装置をラット用搾乳装置として組み上げた場合の異なった実施の形態を示す図である。

図5は、本発明によるティートカップとそれをチューブに装着した一態様を説明する斜視図である。

図6は、図5のa-a線による断面図である。

図7及び図8は、ティートカップと第1のチューブの装着態様の他の異なった他の実施の形態を示す断面図である。

図9は、図1に示すラット用搾乳装置の拍動特性曲線（パルスグラム）を示す図である。

図10は、図4に示すラット用搾乳装置の拍動特性曲線（パルスグラム）を示す図である。そして、

図11は、現在提案されているラットから搾乳する装置を説明する図である。

図において、10…集乳容器として機能する試験管、11…密封栓、12…第1のチューブ、13…第2のチューブ、20…ティートカップ、31…逆流防止弁、32…真空度計、33…スライド弁式のパルセーター弁、33A、51、55…電磁弁、34…調圧タンクとして機能する濾過ビン、35…圧力調整弁付き真空ポンプ、36…消音手段として機能する濾過ビン、40…陰圧発生源としてのアスピレーター、50…電磁弁の開閉制御手段（コンピュータ）、である。

#### 発明の実施の形態

以下、本発明による実験動物用搾乳装置をいくつかの実施の形態に基づき説明

する。図 1 は、本発明による実験動物用搾乳装置をラット用搾乳装置として組み上げた場合の一例であり、集乳容器として機能する試験管 10 に密封栓 11 がしめてあり、該密封栓 11 に挿入したガラス管を介して、第 1 のチューブ 12 及び第 2 のチューブ 13 が試験管 10 内に連通する状態で接続されている。この例において、第 1 のチューブ 12 及び第 2 のチューブ 13 はビニールチューブを用いているが、シリコンチューブであってもよい。そして、前記第 1 のチューブ 12 の他端には後記するティートカップ 20 が交換可能な状態で装着されている。

前記第 2 のチューブ 13 の他端側は、硬質ガラス製逆流防止弁 31 及び真空度計 32 を介して、スライド弁式のパルセーター弁 33 の一方側に接続しており、該パルセーター弁 33 の他方側は調圧タンクあるいはアキュムレータとして機能する濾過ビン 34 を介して、圧力調整弁付き真空ポンプ 35 に接続している。さらに、真空ポンプ 35 の作動音を消音するために、真空ポンプの排気側を濾過ビン 36 の吸引口につなぎ、該濾過ビン 36 はガラス製の L 字管 37 を介して排気管 38 につないでいる。なお、このような消音手段は、無麻酔で搾乳するような場合に、ラットのような小さい実験動物を刺激しないために必要性が多い。これらの機器の接続には、好ましくはシリコン製のチューブ 14 が用いられる。

上記の構成であり、このラット用搾乳装置においては、真空ポンプ 35 及び真空ポンプ 35 につないだパルセーター弁 33 をラットの搾乳に適した陰圧と大気圧を一定の間隔で拍動するように適宜調節した後、実験者は一方の手でラットを保持し、他方の手でティートカップ 20 の先端を自分が保持したラットの乳頭に装着した姿勢でラットからの搾乳を行う。この搾乳作業は、一人の実験者でもってすべてを行うことができる。

図 2 は、本発明による実験動物用搾乳装置の他の実施の形態を示している。この形態では、図 1 に示した装置と比較して、陰圧発生源として真空ポンプ 35 ではなく、実質的に一定流量で流れる流体（例えば水道水）の運動量を作動源とする陰圧発生手段（アスピレーター）40 を用い、また、パルセーター 33 に換えて、コンピュータを用いた制御手段 50 によって開閉が調節される 2 方向電磁弁 33A を用いている点で相違している（なお、制御手段 50 は周知のものでよく、説明は省略する）。前記第 2 のチューブ 13 の前記他端側は、逆流防止弁 31 及び



真空調節器 39 を介して、前記アスピレーター 40 の吸引側に接続している。そして、真空調節器 39 とアスピレーター 40 との間には前記電磁弁 33 A が配置され、前記第 2 のチューブ 13 及び機器の接続チューブ 14 の内部をアスピレーター 40 に接続した状態と大気に解放した状態とに切り替えるようにしている。

アスピレーター 40 は従来知られたものであり、導水管 41 と、該導水管 41 の末端 41 a を收容する膨出部 42 を先端に備えた排水管 43 を備え、該排水管 43 の膨出部 42 における縮径部 44 と導水管 41 の末端 41 a との間でノズル吸引を生じさせることにより、膨出部 42 内を陰圧とする。そして、前記膨出部 42 内は、そこに形成した枝管 45 から逆流防止弁 46 を介して前記第 2 のチューブ 13 (接続チューブ 14) に接続している。

この形態では、真空ポンプを用いないことから騒音が少なくかつコンパクトな装置とすることができる。また、真空調節器 39 を調節することにより、任意の陰圧も容易に得ることができる。図示のようにアスピレーター 40 の作動流体として実験室などでの水道流水を用いる場合には、水道栓 47 の開度を調節することによっても陰圧を容易に調整することができる。さらに、電磁弁 33 A とその開閉制御手段 50 を採用したことにより、容易に任意周期の拍動を作り出すことができ、多種の実験動物に適切に対処することが容易となる。

図 3 は、本発明による実験動物用搾乳装置のさらに他の実施の形態であり、この例では、図 2 に示した装置から真空調節器 39 を除去し、単に真空計 32 のみを設けている。この場合でも、前記のように、アスピレーター 40 に接続した水道栓 47 の開度を調節することによって、搾乳実験に必要な所望の陰圧を容易に調整することができる。

さらに、図 1 に示した搾乳装置において、そのパルセーター弁 33 に換えて、図 2 及び図 3 に示したような電磁弁とその開閉制御手段 50 を採用することはもちろん可能である。図 4 は、そのような形式の搾乳装置の一例を模式的に示すものであり、第 1 の分岐管 14 a には圧力センサ 51 が備えられ、より下流に設けた第 2 の分岐管 14 b には第 1 の 2 方向電磁弁 33 A が備えられる。第 1 の 2 方向電磁弁 33 A は開くことにより第 2 の分岐管 14 b を大気に開放する。第 2 の分岐管 14 b より下流において第 2 のチューブ 13 には第 2 の 2 方向電磁弁 33

Bが備えられており、開くことにより、第2のチューブ13の他端側を調圧タンクあるいはアキュムレータとして機能する負圧タンク34a側に連通させる。負圧タンク34aは真空ポンプ35に接続しており、陰圧状態に維持される。

コンピュータ50は圧力センサ51、第1と第2の電磁弁33A、33B及び真空ポンプ35との間で情報伝達可能に接続しており、圧力センサ51からの圧力情報の入力、第1と第2の電磁弁33A、33Bの開閉タイミングの制御出力、真空ポンプ35の作動制御の出力などを司る。

この搾乳装置の作動の一例を説明する。第1と第2の電磁弁33A、33Bを閉じた状態で真空ポンプ35を運転し、負圧タンク34a内に陰圧を生成する。所定圧が確立した後、第2の電磁弁33Bを開く。それにより、第2のチューブ13内の空気は負圧タンク34a内に引き込まれ大気圧から所定の陰圧(設定圧)となる。その時点で第2の電磁弁33Bを閉じる。それにより設定した陰圧状態が第2のチューブ13内に確立されかつ維持される(ティートカップからの吸引が行われる)。

その状態を一定時間継続させた後、第1の電磁弁33Aを開く。それにより、第2のチューブ13内は大気開放された状態となり、圧力は大気圧に戻る。その状態を一定時間継続させた後、再度、第2の電磁弁33Bを開く。以下、このサイクルを設定回数繰り返すことにより、所要の搾乳が進行する。もし、前記吸引工程中に、設定陰圧の下限值にまで達したときには、一時的に第2の電磁弁33Bを開き、再吸引して圧力を設定値に戻す。

次に、上記装置に用いるティートカップについて詳細に説明する。図5は、ティートカップ20の一実施の形態を示す斜視図であり、前記第1のチューブ12の先端に装着した状態を示している。図6は図5のa-a線による断面図である。この例において、前記第1のチューブ12は内径約2mm、外径約4mmのものを用いており、その先端から約2mmのところにティートカップ20の位置決めの目的で、シリコン製Oリング(内径約2mm、厚さ約1mm)15を接着剤により固定している。ティートカップ20は柔らかいゴム製(例えば、シリコンゴム)であり、内径 $d = 4\text{ mm}$ 程度、外径 $D = 7\text{ mm}$ 程度、高さ $h = 4\text{ mm}$ 程度の全体として先端を頂面部分(ライナー)21aで閉鎖した円筒形状をなす。この

例では、図示のように、第1のチューブ12の先端をティートカップ20の外嵌部分21bに差し込むことにより、頂面部分21aの裏面と第1のチューブ12の先端との間に約1.6mmの隙間aが形成される。

ティートカップ20の頂面部分21aは母ラットの乳頭と乳房が直接接する裏打ち部分であり、厚み $b = 0.4$  mm程度である。そしてその中央部にはラットの乳頭が入り込む直径 $c_1 = 1.8$  mm程度の挿入孔22が形成されている。該挿入孔22は長さ $t = 0.8$  mm程度の先端側が拡径した円錐形であり、後端側の直径 $c_2 = 1.4$  mm程度である。さらに、頂面部分21aには挿入孔22の内周縁から放射方向に約1.3mmの長さで6葉の切り込み25を入れている。

このティートカップ20では、前記挿入孔22は搾乳期（到達真空度期、吸引期）に、図6で仮想線に示すように、大きく開口し乳頭から乳が吸い出される。吸引された乳は第1のチューブ12を通して試験管10に貯められる。この頂面部分21aに形成した挿入孔22は、休止期（前記した陰圧が掛かっていない到達大気圧期、大気圧期・マッサージ期）には、自己の復元力によって小さく（すなわち、図6に実線で示す元の姿勢に）閉ざされる。前記のように、この挿入孔22の開閉作用によって、母ラットの乳頭及び乳房に与える産仔ラットの吸乳刺激と同様な効果を導くことができ、きわめて重要なものである。

図7はティートカップ20と第1のチューブ12との装着態様の他の実施の形態を示す断面図であり、ここでは、ティートカップ20は図5及び図6に示したものと同様の形態であるが、第1のチューブ12のティートカップ装着側先端部が、ティートカップ20側が大径となるような傾斜面12a（好ましくは傾斜角度15度程度）とされている。そして、該傾斜した先端部がティートカップ20の頂面部分21aの裏面にまで達している点で図6に示すものと相違している。この場合でも、第1のチューブ12の先端に前記傾斜面12aを形成していることにより、前記した挿入孔22の開閉作用は、図5及び図6に示したものと同様に進行する。リング15を必要としないだけ、構成が簡素化される利点がある。

図8はティートカップと第1のチューブ12との装着態様のさらに他の実施の形態を示す断面図であり、ここでは、ティートカップ20Aに形成される挿入孔22Aは、その長さ $t$ が頂面部分21aの厚み $b = 0.4$  mmと同じとされてお

り、先端側の直径  $c_1 = 1.8 \text{ mm}$ 、後端側の直径  $c_2 = 1.5 \text{ mm}$  の円錐形である。実験によれば、この形態のティートカップ 20A でも、先端を傾斜面 12a とした第 1 のチューブと組み合わせて用いることにより、同じような挿入孔の開閉作用を得ることができた。図示しないが、この場合に 6 葉の切り込み 25 を設けなくても、ほぼ同等の開閉作用が得ることも実験で確かめられた。これは、ティートカップ 20A の頂面部分 21 が周方向にも伸縮する結果であると推測される。

次に、図 1 に示すラット用搾乳装置に、図 5 及び図 6 に示したティートカップ 20 を装着してラットの搾乳を行った実験例を説明する。図 9 は当該実験での拍動特性曲線（パルスグラム）である。表 1 はその解析値であり、上記ラット用搾乳装置と図示しない牛用搾乳装置のパルスグラムの解析結果を比較してみると、真空度以外は、牛用搾乳装置における国際標準値の範囲内のものであった。なお、牛用搾乳装置の標準真空度は約  $-330 \text{ mmHg}$ 、範囲  $-300 \text{ mmHg} \sim -350 \text{ mmHg}$  であり、上記ラット用搾乳装置では、真空度は約  $-210 \text{ mmHg}$  及び表 1 に示す条件下で最も多い搾乳量が得られた。なお、図 9 及び表 1 において、A：移行期（到達真空度期）、B：吸引期、C：移行期（到達大気圧期）、D：大気圧期、であり、A+B が搾乳期となり、C+D が休止期（マッサージ期）となる。

【表 1】

真空度（ $-\text{mmHg}$ ）	210
拍動数（分） <sup>a)</sup>	46
拍動比（吸引期比率） <sup>b)</sup>	66
A（msec）	140
B（msec）	720
C（msec）	80
D（msec）	360
A+B（msec）	860
C+D（msec）	440

$$a) : 60 / A + B + C + D \times 1000 = \text{回} / \text{分}$$

$$b) : A + B / A + B + C + D \times 100$$

実験の詳細は次のようである。8 週令の Sprague-Dawley 系ラット（Jcl:SD,

Clea Japan Inc.) を湿度 40～60%、温度  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、照明 14 時間(午前 5 : 00～午後 7 : 00) の条件下で飼育した。飼料 (CE-2Clea Japan Inc.) と水は自由に与えた。この条件下で 3 週間気候順化後、肉眼的に健常なラットのみを選別して実験に用いた。規則正しく性周期を示す 12 週令の雌ラットと同系統の雄ラットをアルミケージに同居させて交配させた。妊娠したラットは、分娩用のポリアクリル製ケージに移した。分娩 4 日目で産仔をランダムに雄 4 匹、雌 4 匹、計 8 匹に調整した。

ラットの最大泌乳期である分娩後 14 日目の朝 8 時に 8 匹の産仔を母親から分離し、夕方 4 時に母親に Oxytocin 1 IU (Atonin-O, Teikoku Zoki Co.,) を皮下注射した。授乳前と授乳後の母ラットと産仔ラットの体重差から乳量を測定する方法を応用した。Oxytocin を注射してから 20 分後、母親ラットを麻酔(sodium pentobarbital)し、乳頭、乳房及びその周辺を 70% アルコール綿で消毒した。乳房を指で軽くマッサージしてから片方の手でティートカップ 20 の頂面部分 21a に乳頭を吸引させ、搾乳を開始した。搾乳中もう一方の手の親指と人差し指で乳房を優しくマッサージ続けた。搾乳は、8 匹の産仔に授乳した全乳頭から可能であった。

前記表 1 の条件下で 8 匹の産仔ラットに授乳した全乳頭から搾乳した乳量を表 2 に示す。泌乳 14 日目の母ラットの平均搾乳量は、 $3.43 \pm 1.71$  グラムであり、この量は、授乳前と授乳後の母ラットと産仔ラットの体重差から求めた乳量と比較するとより少ない量であったが、この量でも今日の化学分析の方法からすれば十分な量である。

【表 2】

	搾乳量 (g / 母ラット)
母ラット数	10
平均±標準偏差	$3.43 \pm 1.71$
範囲	1.4～6.5

さらに、図 4 に示すラット用搾乳装置に図 2 及び図 3 に示したティートカップ 20 を装着し、同様にして以下のようなラットの搾乳実験を行った。図 10 は当該実験での拍動特性曲線 (パルスグラム) であり、表 3 はその解析値である。上

記ラット用搾乳装置では、真空度は約 $-140\text{ mmHg}$ 及び表3に示す条件下で最も多い搾乳量が得られた。図1に示したラット用搾乳装置の場合よりも低い真空度で最も多い搾乳量が得られているが、これは、図1の装置の場合には用いた弁の構造上、弁の適正作動を促すために高い真空度を必要としたためと解される。なお、図10及び表3において、A：移行期（到達真空度期）（第1の電磁弁33A閉、第2の電磁弁33B開）、B：吸引期（第1の電磁弁33A閉、第2の電磁弁33B閉）、C：移行期（到達大気圧期）（第1の電磁弁33A開、第2の電磁弁33B閉）、D：大気圧期（第1の電磁弁33A閉、第2の電磁弁33B閉）であり、A+Bが搾乳期となり、C+Dが休止期（マッサージ期）となる。

【表3】

真空度（ $-\text{mmHg}$ ）	140
拍動数 <sup>a)</sup>	60
拍動比 <sup>b)</sup>	60
A（msec）	100
B（msec）	500
C（msec）	80
D（msec）	320
A+B（msec）	600
C+D（msec）	400

a)： $60 / (A + B + C + D) \times 1000 = \text{回/分}$

b)： $A + B / (A + B + C + D) \times 100$

実験の詳細は次のようである。8週令の Sprague-Dawley 系ラット（Jcl:SD, Clea Japan Inc.）を湿度40～60%、温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照明14時間（午前5：00～午後7：00）の条件下で飼育した。飼料（CE-2Clea Japan Inc.）と水は自由に与えた。この条件下で3週間気候順化後、肉眼的に健常なラットのみを選別して実験に用いた。規則正しく性周期を示す12週令の雌ラットと同系統の雄ラットをアルミケージに同居させて交配させた。妊娠したラットは、分娩用のポリアクリル製ケージに移した。分娩4日目で産仔をランダムに雄4匹、雌4匹、計8匹に調整した。

分娩後4，7，10，14，18日目の朝8時に8匹の産仔を母親から分離し、夕方4時に母親に Oxytocin 1 IU（Atonin-O, Teikoku Zoki Co.,）を皮下注射し

た。授乳前と授乳後の母ラットと産仔ラットの体重差から乳量を測定する方法を採用した。Oxytocin を注射してから 20 分後、母親ラットを麻酔(sodium pentobarbital)し、乳頭、乳房及びその周辺を 70 %アルコール綿で消毒した。乳房を手で軽くマッサージしてから片方の手でティートカップ 20 の頂面部分 21 a に乳頭を吸引させ、搾乳を開始した。搾乳中ももう一方の手の親指と人差し指で乳房を優しくマッサージ続けた。搾乳は、8 匹の産仔に授乳した全乳頭から可能であった。

前記表 3 の条件下で 8 匹の産仔ラットに授乳した全乳頭から搾乳した乳量を表 4 に示す。泌乳 14 日目の母ラットの平均搾乳量は  $3.99 \pm 1.22$  グラムで各搾乳群の中で最大量である。この量は、授乳前と授乳後の母ラットと産仔ラットの体重差から求めた乳量と比較するとより少ない量であったが、この量でも今日の化学分析の方法からすれば十分な量である。

【表 4】

分娩後の日数	4	7	10	14	18
平均搾乳量 g <sup>a)</sup>	$0.76 \pm 0.48$	$1.66 \pm 0.65$	$2.47 \pm 0.67$	$3.99 \pm 1.22$	$2.10 \pm 0.93$
範囲	0.28~1.78	1.01~2.88	1.59~3.57	2.05~6.21	0.28~3.27
搾乳量 0.5g 以上の母ラ ット数 (%)	66(10/15 <sup>b)</sup> )	100(15/15 <sup>b)</sup> )	100(15/15 <sup>b)</sup> )	100(15/15 <sup>b)</sup> )	80(12/15 <sup>b)</sup> )

値は 15 匹の母ラットの平均搾乳量±標準偏差である。

a) 全乳頭からの搾乳量

b) 搾乳量 0.5 g 以上の母ラット数／搾乳した全母ラット数×100 %

上記のように、本発明による実験動物用搾乳装置によれば、一人の実験者でもって実験動物からの搾乳作業が可能となり、かつ、実験者の個人差に左右されない普遍的に搾乳データを入手することができる。また、実験動物用搾乳装置に特に適した本発明によるティートカップを用いることにより、ラットやマウスのような比較的小形でありかつ多産系の実験動物の乳頭から直接搾乳することが可能

となり、そのために、乳を介した外因性有害物質の生体に及ぼす影響などを明らかにする上で、特に有用な手段となる。



## 請求の範囲

1. 内部を外気と遮断した状態に保持できる集乳容器と、該集乳容器の上方部分において集乳容器の内部に連通する状態で一端が挿入された第1及び第2の2本のチューブと、前記第1のチューブの他端に交換可能に装着されたティートカップと、前記第2のチューブの他端に装着された陰圧発生源とを備え、さらに、前記第2のチューブの内部を大気圧と前記陰圧発生源に起因した陰圧の状態とに拍動的に切り替えることのできる圧力切り替え手段とを少なくとも備えることを特徴とする実験動物用搾乳装置。

2. 前記陰圧発生源は真空ポンプであり、かつ、前記第2のチューブの内部圧力を調圧する圧力調整器がさらに備えられていることを特徴とする請求項1記載の実験動物用搾乳装置。

3. 前記陰圧発生源は実質的に安定した流量で流れる流体の運動量を作動源とする陰圧発生手段であることを特徴とする請求項1記載の実験動物用搾乳装置。

4. 前記圧力切り替え手段が、第2のチューブを常時陰圧発生源に接続した状態で、第2のチューブの内部を大気に開放した状態と遮断した状態とに切り替えることのできる開閉弁により構成されていることを特徴とする請求項1記載の実験動物用搾乳装置。

5. 前記圧力切り替え手段が、第2のチューブを陰圧発生源に断続する第1の開閉弁と、第1の開閉弁よりも上流側において第2のチューブの内部を大気に開放した状態と遮断した状態とに切り替える第2の開閉弁とにより構成されていることを特徴とする請求項1記載の実験動物用搾乳装置。

6. 前記開閉弁は電磁弁であり、電磁弁の開閉タイミングを制御するための制御手段をさらに備えることを特徴とする請求項4又は5記載の実験動物用搾乳装置。

7. 前記圧力切り替え手段がパルセーター弁を含むことを特徴とする請求項1記載の実験動物用搾乳装置。

8. 前記ティートカップは、実験動物の乳頭への挿入孔を備えた頂面部分

と、該頂面部分の周囲から延出する前記第 1 のチューブへの外嵌部分とを有しており、前記頂面部分の少なくとも前記挿入孔周辺は、搾乳時に、第 1 のチューブ内が陰圧となったときに内側へ向けて変形し、大気圧になったときに元の姿勢に復帰するような柔軟さと弾性力を持つように構成されていることを特徴とする請求項 1 ないし 7 いずれか記載の実験動物用搾乳装置。

9. 前記ティートカップの前記挿入孔の内周面は、前記第 1 のチューブ側が小径となるような傾斜面とされていることを特徴とする請求項 8 記載の実験動物用搾乳装置。

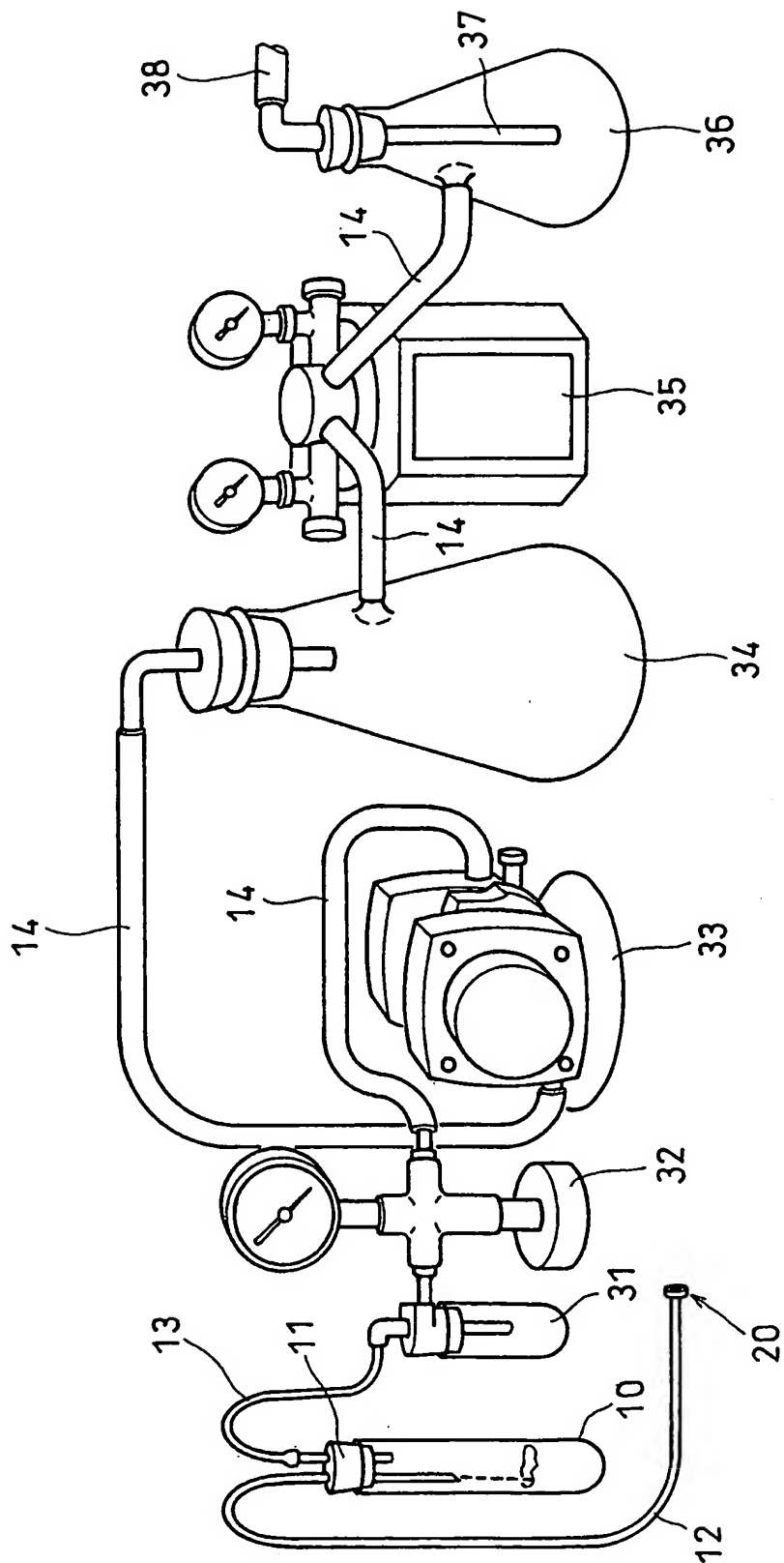
10. 前記ティートカップの前記頂面部分における前記挿入孔周辺には放射方向の切り込みが形成されていることを特徴とする請求項 8 記載の実験動物用搾乳装置。

11. 前記第 1 のチューブのティートカップ装着側先端部は、ティートカップ側が大径となるような傾斜面とされていることを特徴とする請求項 8 記載の実験動物用搾乳装置。

12. ラット又はマウス用の搾乳装置であることを特徴とする請求項 1 ないし 11 いずれか記載の実験動物用搾乳装置。

13. 搾乳時にティートカップ先端に発生する陰圧が 0 mmHg ～ - 210 mmHg、好ましくは 0 mmHg ～ - 150 mmHg の間の陰圧であることを特徴とする請求項 12 記載の実験動物用搾乳装置。

図 1



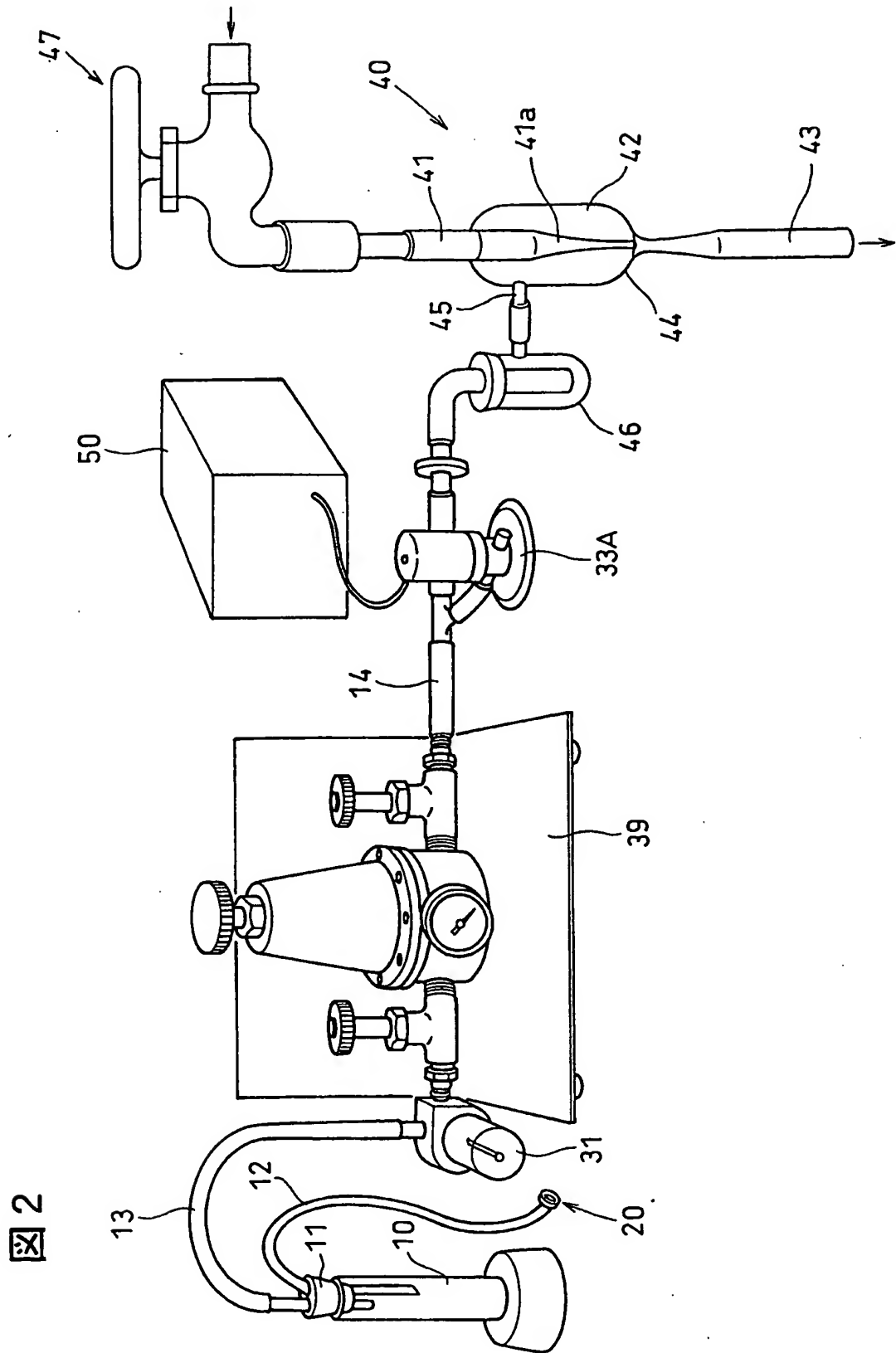


図 2

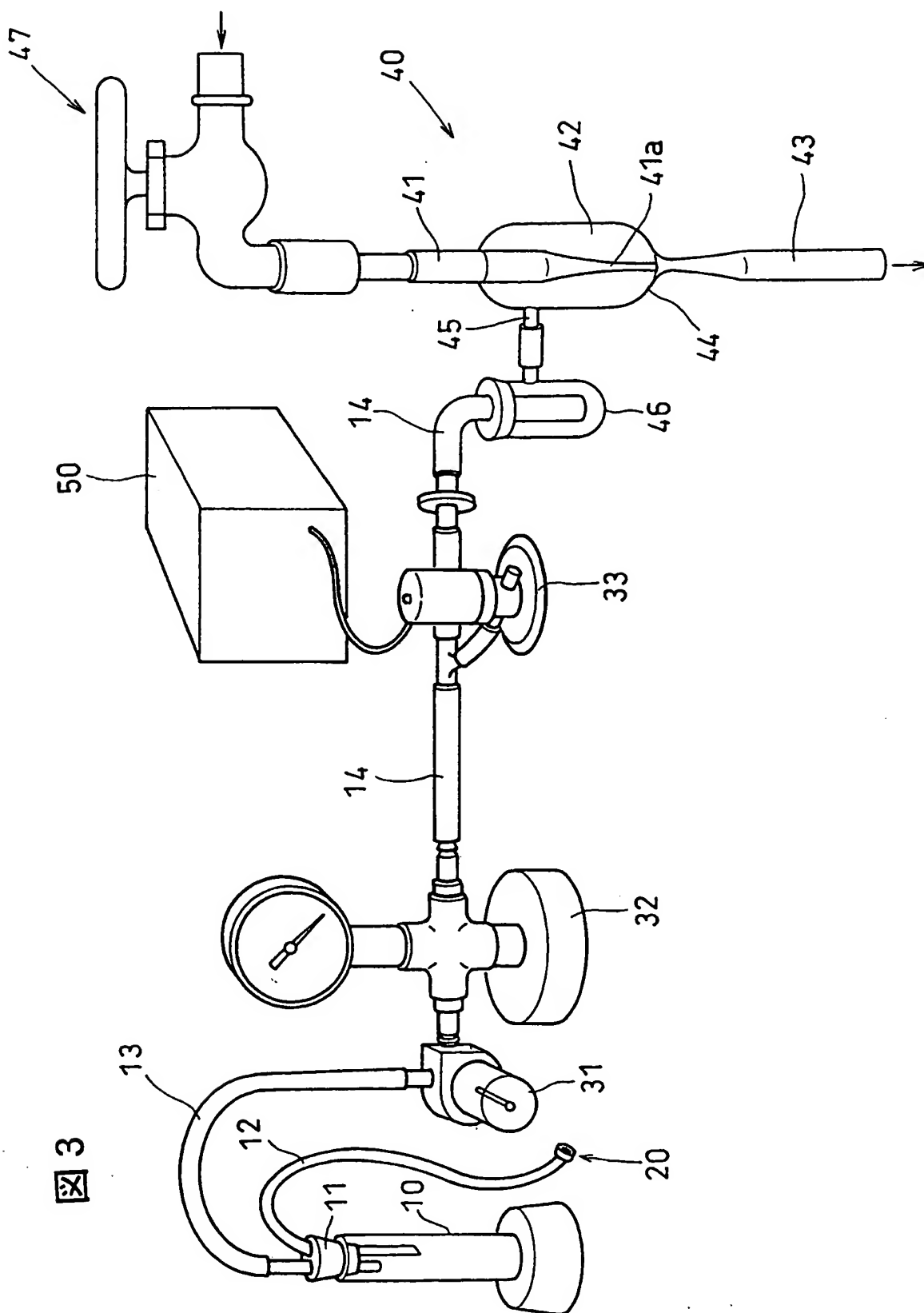
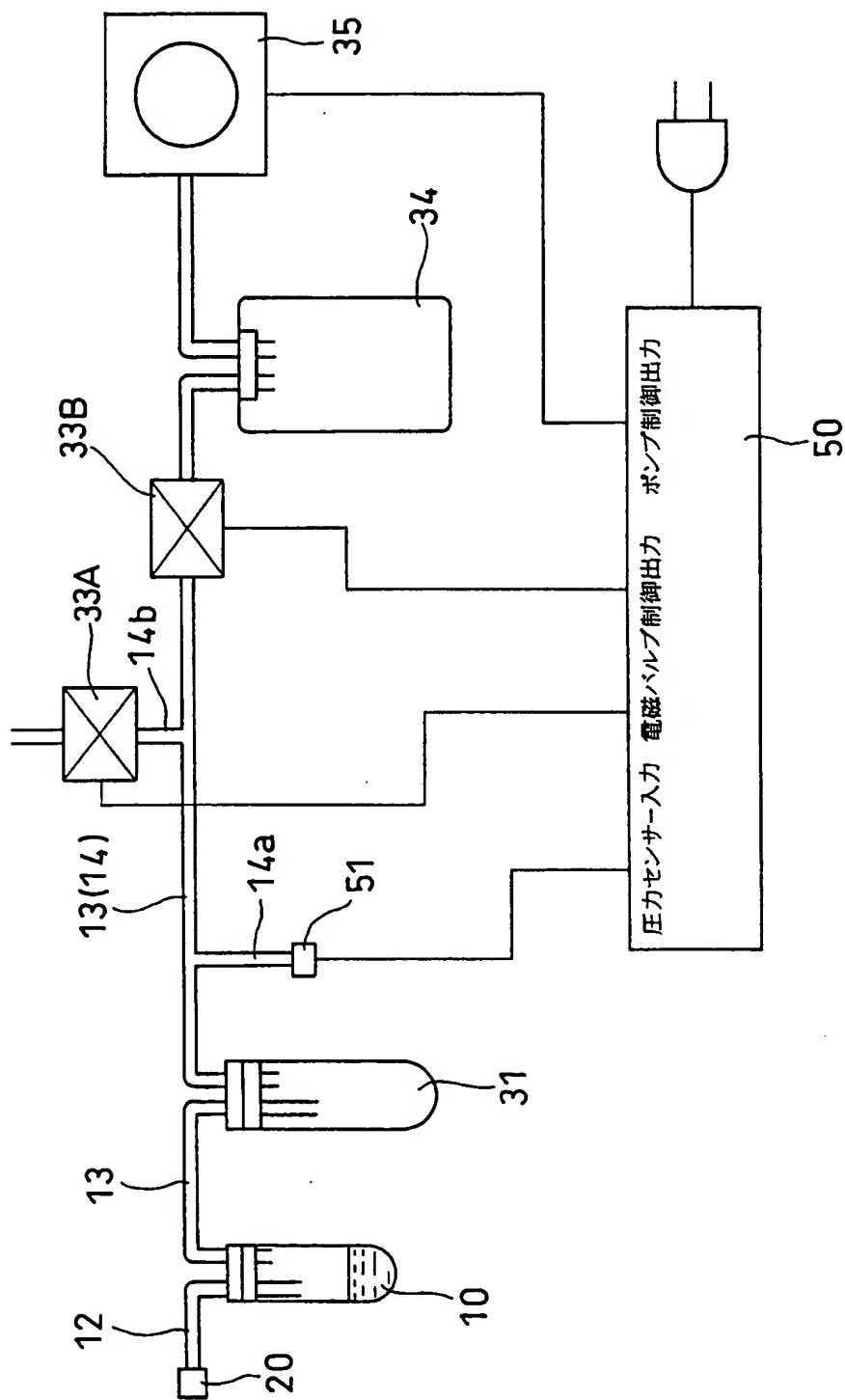


図 4



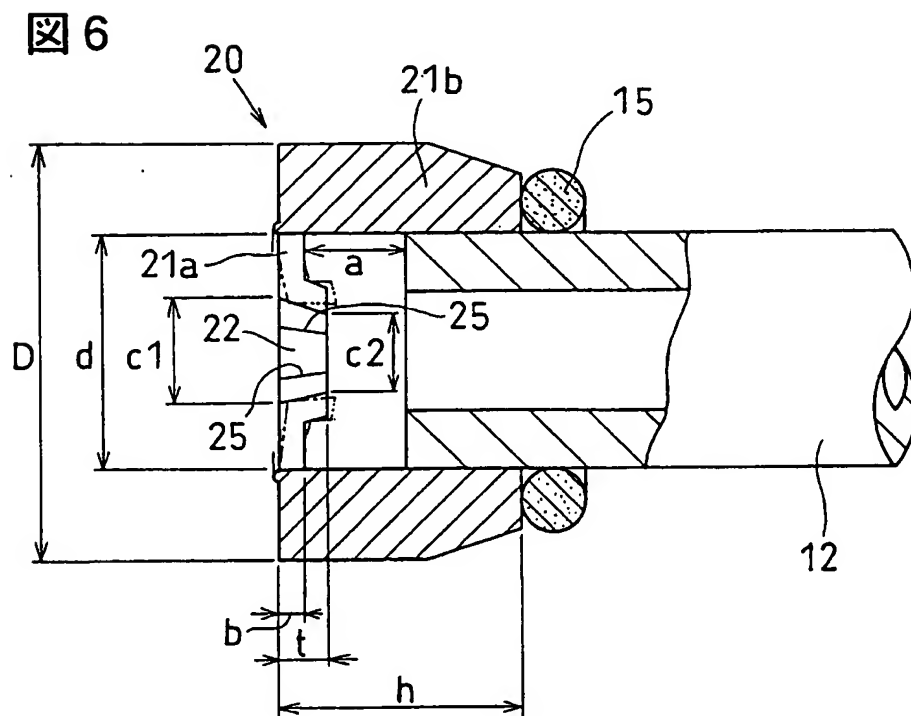
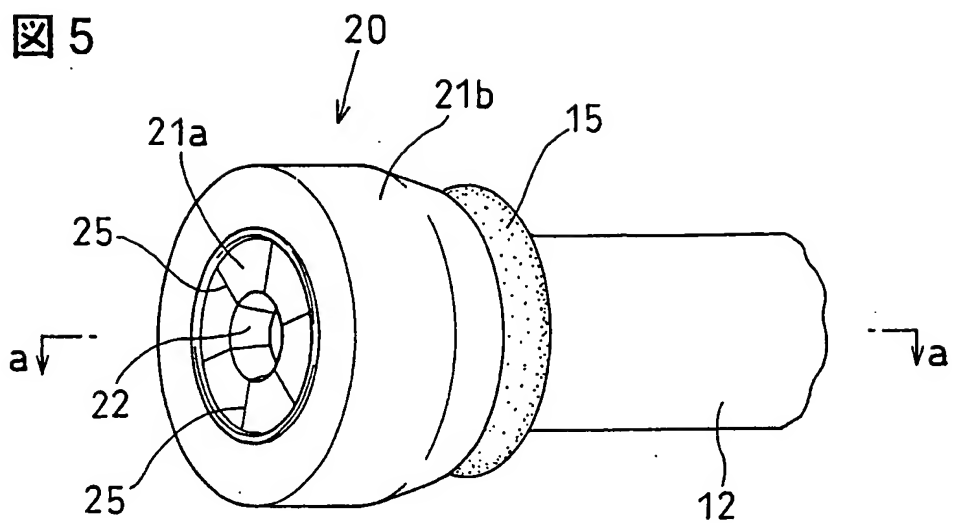


図 7

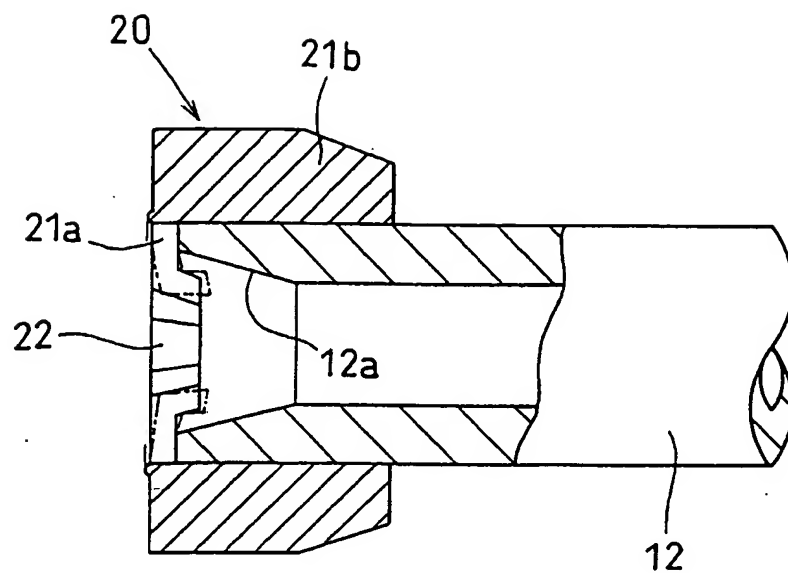


図 8

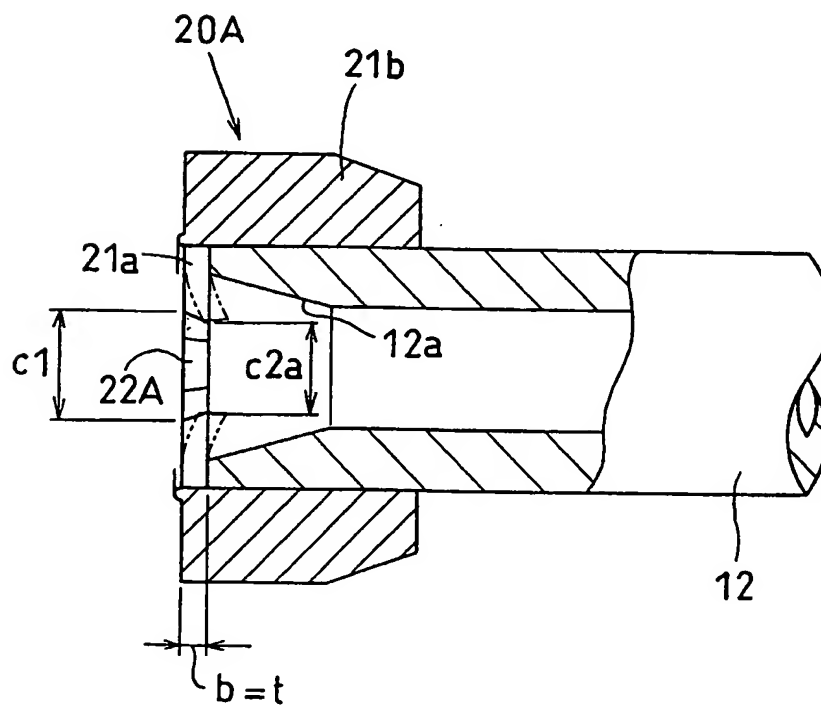




図 9

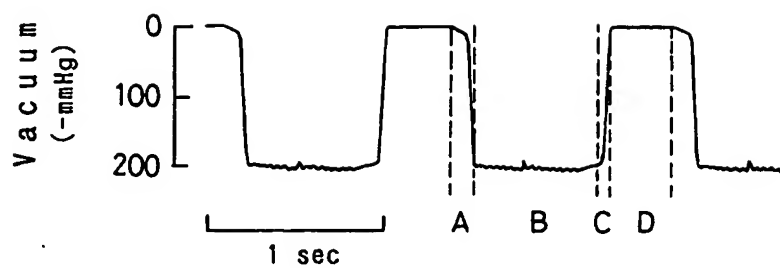


図 10

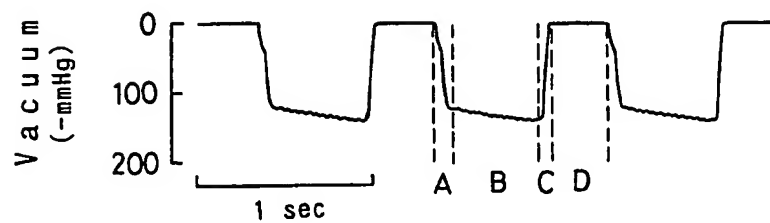
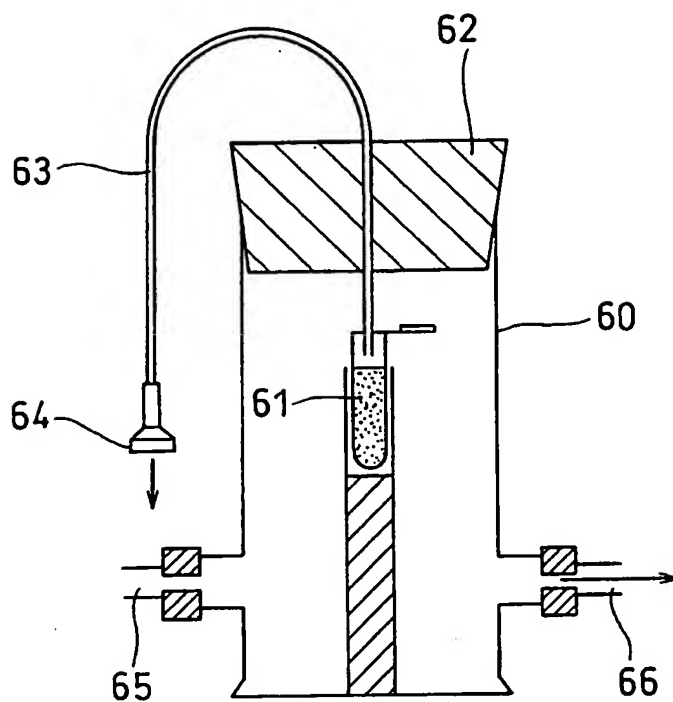


図 11



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/09112

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N1/10, G01N33/48, A01J5/04, A01K67/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N1/10, G01N33/48, A01J5/04, A01K67/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1992-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2001	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP, 49-133162, A (Takamichi TERAUCHI), 20 December, 1974 (20.12.74), page 2, upper left column, line 14 to page 2, lower right column, line 17; Figs. 2-8	1-7, 12-13 8-11
Y A	JOURNAL of DAILY SCIENCE, 62, 9, (1979) (USA) W. N. MCKENZIE, JR and R.R.ANDERSON "A Modified Device for Collecting Milk from Guinea Pigs", pp.1469-1470 p.1469, right column, line 20 to p.1470, line 10; Fig. 1	1-7, 12-13 8-11
Y	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No.170953/1981 (Laid-open No.74943/1983) (Shigeru YAMAZAKI), 20 May, 1983 (20.05.83), page 2, lines 3 to 6; Fig. 1 (Family: none)	3, 12-13
Y	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No.164527/1985 (Laid-open No.72643/1987) (Matsushita Electric Works, Ltd.),	4, 6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing  
date

"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means

"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
23 February, 2000 (23.02.00)Date of mailing of the international search report  
06 March, 2001 (06.03.01)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Patent provided by Sughrue Mion, PLLC - <http://www.sughrue.com>

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/09112

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	09 May, 1987 (09.05.87), page 2, line 11 to page 3, line 10; drawings (Family: none)	
Y	WO, 96/25036, A1 (GEHM Lanny), 22 August, 1996 (22.08.96), Full text; all drawings & JP, 9-512180, A & US, 5697325, A & EP, 755182, A1	5-7
A	JP, 7-31312, A (KUBOTA Corporation), 03 February, 1995 (03.02.95), Full text; all drawings (Family: none)	1-13

Patent provided by Sughrue Mion, PLLC - <http://www.sughrue.com>

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N1/10, G01N33/48, A01J5/04, A01K67/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N1/10, G01N33/48, A01J5/04, A01K67/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1992-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2001年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2001年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	JP, 49-133162, A (寺内隆吾) 20. 12月. 1974 (20. 12. 74) 第2頁上左欄第14行一同頁下右欄第17行及び第2-8図	1-7, 12-13 8-11
Y A	JOURNAL of DAILY SCIENCE, 62, 9, (1979) (米) W.N. MCKENZIE, JR and R.R. ANDERSON 「A Modified Device for Coll ecting Milk from Guinea Pigs」, p.1469-1470 第1469頁右欄第20行-第1470頁第10行、及び第1図	1-7, 12-13 8-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

23. 02. 01

国際調査報告の発送日

06.03.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小山 茂 印

2J

7519

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	日本国実用新案登録出願56-170953号(日本国実用新案登録出願公開58-74943号)の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマイクロフィルム, (山崎繁) 20. 5月. 1983 (20. 05. 83) 第2頁第3-6行、及び第1図 ファミリーなし	3, 12-13
Y	日本国実用新案登録出願60-164527号(日本国実用新案登録出願公開62-72643号)の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマイクロフィルム (松下電工株式会社) 9. 5月. 1987 (09. 05. 87) 第2頁第11行-第3頁第10行、及び図面 ファミリーなし	4, 6
Y	WO, 96/25036, A1 (GEHM Lanny) 22. 8月. 1996 (22. 08. 96) 全文、全図 & JP, 9-512180, A & US, 5697325, A & EP, 755182, A1	5-7
A	JP, 7-31312, A (株式会社クボタ) 3. 2月. 1995 (03. 02. 95) 全文、全図 ファミリーなし	1-13